

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ И РЕПАРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МАЗИ КОМБИСЕПТ

ЯРЕМЧУК А.А.*, ХИШОВА О.М.***, ПОЛОВКО Н.П.***

ООО «Фармтехнология», г. Минск*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,**

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков***

Резюме. В статье представлены результаты изучения фармакологической активности мази комбинированного действия на макромолекулярной основе, содержащей в качестве действующих веществ бензалкония хлорид, декспантенол и левомицетин (хлорамфеникол). На моделях каррагининового воспаления и термического ожога установлено, что исследуемая мазь обладает выраженной противовоспалительной активностью. Также установлено наличие у мази репаративной активности на модели линейной резаной раны.

На основании полученных данных сделан вывод о целесообразности проведения дальнейших доклинических и клинических испытаний с целью регистрации мази КОМБИСЕПТ в МЗ РБ и внедрения ее в клиническую практику.

Ключевые слова: КОМБИСЕПТ, МЕКОЛЬ-БОРИМЕД, мазь для наружного применения, каррагининовое воспаление, антиэкссудативное действие, термический ожог, модель линейных резаных ран, процессы репарации, крысы, мыши.

Abstract. The article presents the results of the study of the pharmacological activity of the combined action ointment on polyethylene oxide basis, containing benzalkonium chloride, dexpanthenol and levomycetene (chloramphenicol) as active constituents.

Using carrageenan inflammation and thermal burns models it has been found that the studied ointment has expressed anti-inflammatory activity. On linear incised wound model it has also been determined that this ointment possesses reparative activity.

On the basis of the received data it has been concluded that further preclinical and clinical trials are necessary for the registration of COMBISEPT ointment in the Ministry of Health of the Republic of Belarus and its introduction into clinical practice.

На протяжении множества веков гнойные заболевания мягких тканей и осложнения ран были самыми распространенными заболеваниями и ухудшали результаты самых лучших в техническом плане операций. Открытие антибиотиков позволи-

ло расширить спектр хирургических вмешательств, кардинальным образом изменить показатели смертности и гнойных осложнений в послеоперационный период. Но уже через 15-20 лет после широкого внедрения данных лекарственных средств (ЛС) появились новые, не менее серьезные проблемы – резистентность микрофлоры к антибактериальным ЛС и новые штаммы госпитальной инфекции. Число устойчивых к антибактериальным ЛС

Адрес для корреспонденции: 220024, г. Минск, ул. Корженевского, 22, ООО «Фармтехнология», тел. раб.: 8 (017) 212-90-30 – Яремчук А.А.

возбудителей инфекций становится все больше, что связано и с широким распространением антибиотиков, и с их нерациональным использованием в лечении [1].

Инфекция в хирургии является основным видом осложнений и приобрела особое значение в связи с увеличением частоты гнойных заболеваний и послеоперационных нагноений, которая составляет 23-60%.

Успех в лечении ран зависит от ряда факторов: понимания биологических законов заживления ран, правильной оценки фазы раневого процесса и адекватного выбора наиболее эффективных способов лечения, ускоряющего очищения и заживления ран [2].

Таким образом, с учетом всей проблематики лечения гнойно-воспалительных процессов создание новых, более эффективных лекарственных препаратов является актуальным.

Цель работы – провести комплексное изучение противовоспалительной активности разработанного ЛС КОМБИСЕПТ, мази для наружного применения, на моделях: каррагенинового воспаления, термического ожога, линейных резаных ран на двух видах мелких грызунов – крысах и мышах.

Методы

Выбор объектов и методов исследования осуществляли с учетом требований Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей редакцией О.В. Стефанова и Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева [3, 4], предъявляемых к доклиническому этапу изучения медико-биологических свойств разрабатываемых ЛС.

Для экспериментов были выбраны беспородные мыши (модель термического ожога) и крысы линии Вистар как виды, общепринятые для доклинических исследований.

Исследуемым ЛС является мазь КОМБИСЕПТ, содержащая в качестве действующих веществ бензалкония хлорид – 0,5 г, левомицетин (хлорамфеникол) – 0,75 г и декспантенола – 5 г на 100 г мази, основой кото-

рой является сплав макрогола-1500 и макрогола-400 в соотношении 1:4,5. ЛС сравнения является мазь МЕКОЛЬ-БОРИМЕД, содержащая в качестве действующих веществ левомицетин (хлорамфеникол) – 0,75 г и метилурацил – 4,0 г на 100 г мази, основой которой является сплав макрогола-1500 и макрогола-400 [5].

Модель каррагенинового воспаления.

Острый воспалительный отек вызывали субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1%, водного раствора каррагенина. Антиэкссудативное действие мази КОМБИСЕПТ и ЛС сравнения – мази МЕКОЛЬ-БОРИМЕД определяли в момент максимального развития отека (3 часа).

Исследуемое ЛС и ЛС сравнения наносили на задние лапы животным за один час до субплантарного введения флогогена.

Активность рассчитывали в сравнении с группой контрольной патологии и выражали в процентах. Противовоспалительную активность вычисляли по формуле:

$$A = \frac{P_k - P_u \times 100}{P_k}, \text{ где}$$

A – антиэкссудативная активность, в процентах;

P_k – средняя разница в объеме (массе) отечной и неотечной конечности в контроле;

P_u – средняя разница в объеме (массе) отечной и неотечной конечности в исследуемой группе.

Модель термического ожога. Исследования проводили на белых мышах массой 18-20 г. Животные были разделены на три группы по 6 животных в каждой группе.

Для создания патологии у мышей вызывали ожог правой задней лапки путем опускания ее в горячую воду с температурой 54,5°C на 4 секунды (время процедуры засекали с помощью секундомера). После этого на обожженную лапку животных опытной группы наносили исследуемое ЛС КОМБИСЕПТ. Животных контрольной группы не лечили. В качестве ЛС сравнения использовали мазь МЕКОЛЬ-БОРИМЕД.

Через 24 часа животных выводили из эксперимента, отрезали обе лапки, взвешивали на электронных весах «Adventurer Ohaus»

и рассчитывали разницу в массе между отечной и неотечной лапками.

Противовоспалительную активность мази в процентах определяли по формуле согласно методике.

Репаративная активность на модели линейных резаных ран. Для воспроизведения линейной резаной раны крысам массой (180-230) г под барбамилловым наркозом (0,8 мл 1% водного раствора барбамилла на 100 г массы животного) в асептических условиях ножницами делали разрез длиной 5,0 см на депилированном участке спины размером (5×3) см. Сразу накладывали швы на расстоянии 1,0 см один от одного и обрабатывали кожу 5% раствором йода. Со следующего дня начинали лечение исследуемой мазью КОМБИСЕПТ и ЛС сравнения – мазью МЕКОЛЬ-БОРИМЕД, которое продолжалось 5 дней. Животных группы контрольной патологии не лечили.

На 6-й день исследования животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом и вырезали кусочек кожи с рубцом. На специальном приборе – ранотензиометре проводили испытание прочности срастания краев раны. Для этого один край шва закрепляли в стационарном креплении, а второй – в креплении с грузом (посуда с водой). Равномерно наливали воду в посуду, определяли массу, при которой шов расходился. Прочность шва в исследуемой и контрольной группах соответствовала массе воды, которая необходима для разрыва рубца.

Репаративную активность ЛС, в процентах вычисляли по формуле:

$$A_p = \frac{(\Delta M_d - \Delta M_k) \times 100}{\Delta M_k}, \text{ где}$$

Ar – репаративная активность, в процентах;

ΔMд – нагрузка, при которой расходился шов у животных исследуемой группы;

ΔMк – нагрузка, при которой расходился шов у контрольных животных.

Исследования по изучению противовоспалительной активности мази КОМБИСЕПТ проводили на базе Проблемной лаборатории морфофункциональных исследований кафедры биологии, физиологии и анатомии челове-

ка Национального фармацевтического университета г. Харьков.

Результаты и обсуждение

Модель каррагенинового воспаления.

В экспериментальных исследованиях для изучения противовоспалительных средств (скрининга веществ, обладающих антиэкссудативным действием) наиболее широко применяется модель острого воспалительного отека лапки животного, вызванного каррагенином, а также другими флогенными агентами – формалином, каолином, серотонином, трипсином, дрожжами, протеолитическими ферментами и др. [6]. Именно эта модель позволяет объективно оценить противовоспалительное действие ЛС и предсказать их клиническую эффективность.

За развитием воспалительного процесса судили по изменению ректальной температуры, учитывая то обстоятельство, что воспалительные заболевания не являются локальными процессами, как правило, затрагиваются основные показательные факторы (системные), которые свидетельствуют о процессе воспаления.

Полученные экспериментальные данные представлены в таблице 1.

О развитии воспалительного процесса у крыс после введения флогена через 3 часа (пик воспаления) указывает достоверное, по сравнению с исходной температурой (37,2-37,6)°С, повышение ректальной температуры до (39,8 ± 0,18) С. В то же время у животных, получавших за 1 час до введения флогена ЛС КОМБИСЕПТ, ректальная температура была ниже в 1,1 раза по сравнению с нелечеными животными (37,9 ± 0,21) °С. У группы, получавшей ЛС сравнения МЕКОЛЬ-БОРИМЕД, ректальная температура оставалась на уровне контрольной группы (39,3 ± 0,29) °С.

Как следует из полученных экспериментальных данных, представленных в таблице 1, КОМБИСЕПТ, мазь для наружного применения, на модели каррагенинового воспаления у крыс проявляет противовоспалительную активность, которая составляет 48,9%, что в 1,68 раза выше активности ЛС сравнения – мази МЕКОЛЬ-БОРИМЕД 29,1%.

Таблица 1

**Противовоспалительная активность мази КОМБИСЕПТ
на модели каррагенинового воспаления лапы крыс**

Условия опыта	Ректальная температура крыс через 3 ч, после введения флогогена, °С	ΔV , у.ед. (через 3 часа)	Противовоспалительная активность, %
Контроль (нелеченные животные)	$39,8 \pm 0,18$	$27,8 \pm 1,7$	–
Мазь КОМБИСЕПТ	$37,9 \pm 0,21$	$14,2 \pm 1,1^{**}$	48,9
Препарат сравнения МЕКОЛЬ-БОРИМЕД	$39,3 \pm 0,29$	$19,7 \pm 0,9^*$	29,1

Примечание: * – достоверность различий испытуемого ЛС и препарата сравнения по отношению к контролю, ** – достоверность различий испытуемого лекарственного средства по отношению к ЛС сравнения при уровне значимости $P < 0,05$ соответственно.

В механизме развития каррагенинового отека участвуют различные медиаторы воспаления – биогенные амины, кининовая система, простагландины. В первые 30-90 мин в патогенезе каррагенинового воспаления принимают участие серотонин и гистамин, в интервале между 1,5-2,5 часами – кинины, а между 2,5-5,5 часами – простагландины. В состав экспериментального образца мази входят хлорамфеникол и дексапантенол, которые, согласно данным литературы, способны ингибировать синтез простагландинов, поэтому можно предположить, что противовоспалительный эффект исследуемого образца связан с подавлением биосинтеза данного класса соединений.

Модель термического ожога. Противовоспалительную активность мази КОМБИСЕПТ изучали на достаточно доступной модели термического воспаления лапы у мышей. На этой модели у животных развивается преимущественно экссудативное воспаление.

Полученные экспериментальные данные представлены в таблице 2.

Как следует из полученных экспериментальных данных, представленных в таблице 2, мазь КОМБИСЕПТ оказывает выраженное влияние на экссудативную фазу воспаления. Угнетение отека исследуемым ЛС, вызванного термическим ожогом, составляет 54,5% и превышает по активности препарат сравнения

Таблица 2

**Противовоспалительная активность мази КОМБИСЕПТ
на модели термического ожога лапы мышей**

Условия опыта	Разница в массе лапки с отеком и без отека, мг	Противовоспалительная активность, %
Контроль (нелеченные животные)	$89,2 \pm 7,8$	–
Мазь КОМБИСЕПТ	$40,6 \pm 4,2^{**}$	54,5
Препарат сравнения МЕКОЛЬ-БОРИМЕД	$61,0 \pm 5,7^*$	31,6

Примечание: * – достоверность различий испытуемого ЛС и препарата сравнения по отношению к контролю, ** – достоверность различий испытуемого ЛС по отношению к препарату сравнения при уровне значимости $P < 0,05$ соответственно.

Таблица 3

Изучение репаративной активности мази КОМБИСЕПТ и препарата сравнения – МЕКОЛЬ-БОРИМЕД на модели линейной резаной раны у крыс (n = 6)

Условия опыта	Прочность шва раны, в усл. ед.	Репаративная активность, %
Контрольная патология	301,6 ± 0,35	–
Препарат сравнения МЕКОЛЬ-БОРИМЕД	469,3 ± 19,5*	55,6
Мазь КОМБИСЕПТ	496,1 ± 0,74*	64,5

Примечание: * – достоверность различий испытуемого ЛС и препарата сравнения по отношению к контролю при уровне значимости $P < 0,05$.

– мазь меколь-БОРИМЕД в 1,73 раза, активность которого составляет 31,6%.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о противовоспалительном (противоожоговом) действии мази КОМБИСЕПТ на модели термического воспаления у мышей.

Репаративная активность на модели линейных резаных ран. Изучение активности ранозаживляющих средств предполагает изучение способности ЛС ускорять процессы репарации. Поэтому нами было проведено изучение ранозаживляющей активности экспериментального образца мази на модели резаной раны, которая позволяет в короткий срок оценить влияние изучаемых лекарственных средств на скорость формирования грануляционной ткани и эпителизации раны.

Полученные экспериментальные данные представлены в таблице 3.

Как следует из полученных экспериментальных данных, представленных в таблице 3, мазь КОМБИСЕПТ обладает выраженной репаративной активностью (63,4%), которая превосходит по активности ЛС сравнения – мазь МЕКОЛЬ-БОРИМЕД (52,6%) в 1,2 раза.

Заключение

Исследование противовоспалительного свойства комбинированного лекарственного средства КОМБИСЕПТ, мазь для наружного применения, в модельных опытах *in vivo* позволяет сделать следующие выводы:

1. Мазь КОМБИСЕПТ на модели каррагенинового воспаления у крыс и на модели термического ожога лапы мышей проявляет выраженную противовоспалительную актив-

ность и в 1,7 раза превосходит активность ЛС сравнения – мазь МЕКОЛЬ-БОРИМЕД.

2. Репаративная активность испытуемого лекарственного средства на модели линейной резаной раны у крыс в 1,2 раза превосходит ЛС сравнения.

Таким образом, исходя из полученных данных можно сделать вывод, что проведение дальнейших доклинических и клинических испытаний является перспективным с целью регистрации мази КОМБИСЕПТ в МЗ РБ.

Литература

1. Динамика резистентности возбудителей локальных и генерализованных форм инфекций мягких тканей / Н.А. Бархатова // Казанский медицинский журнал. – 2009. – № 3. – С. 385 – 390.
2. Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ЦНИЛ и 55-летию СНО ВГМУ – Витебск: ВГМУ, 2003г. – 103с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
5. Инструкция по применения лекарственного средства МЕКОЛЬ-БОРИМЕД: утв. МЗ РБ 08.07.2009; рег. номер 09/07/293.
6. Методологические рекомендации: «Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ». – Киев, 1974.

Поступила 29.08.2012 г.

Принята в печать 05.09.2012 г.